

# 初期餌料生物の培養試験（魚類）

大城 信 弘

## 1. 目的および内容

本試験は魚類の種苗生産における初期餌料生物の安定、大量培養及び保存技術の確立を計り、種苗生産魚種の拡大及び安定生産に資することを目的とし、今年度は海産クロレラの地先海水からの分離培養、高密度培養、冷凍・冷蔵保存及び再生実験、ワムシの耐久卵採取及び保存・再生実験等について報告する。

これらについてはすでに他県では実用に供されており、今回は本県でも同様なことが行ない得るかの確認の意味で、予備試験程度に届め、現場での実用に供せるかを検討したが、いずれもほぼ実用が可能であった。

## 2. 方法及び結果

### (1) 海産クロレラの地先海水からの分離培養

例1. 500ℓ透明ポリカーボネード水槽に（以下断わりがない限り容積のみを記す）クリーンフィルターで濾過した海水を500ℓ入れ、硫安50g、尿素4g、過石6.5g、クレワット32を5g加え、径9mmのビニールチューブ1本で毎分約15ℓの通気を行なった。水槽は屋外に設置し（以下同様なので設置場所は特に述べない。）使用前に熱湯をそそぎ、乾燥させた後使用した。海水は場内へポンプアップされているのを用いた。その後血球計算盤でクロレラ等を計数した。計数はクロレラ細胞の少ない期間は計算盤の1mm×1mm平方を1区画として（1万分の1cm<sup>3</sup>）その10区画について行ない、その後クロレラの増殖に伴って区画数を減らし、最大増殖時には $\frac{1}{8}$ 区画の計数を行なった実施期間は昭和56年10月6日～10月26日、

この間降雨があっても特におおいをせず、一部はオーバーフローで流出した。計数、計測はできるだけ午前9時～10時の間に行なった。

結果を図1に示す。開始当初クロレラは10区画に1個、1cc中に1千個（以下個数のみを記す）が認められたが、17日後には700万個に達し、その後急激に減少した。この間、珪藻のニッチャ類や藍藻の、オシラトリア類と思われる糸状の藍藻が発生し、しだいに緑色味を増して来た培養水が13日目にはこげ茶色を呈した。この時点でクリーンフィルターで培養水を濾過した。その結果クロレラは極くわずかに減少したものの藍藻は約2%まで

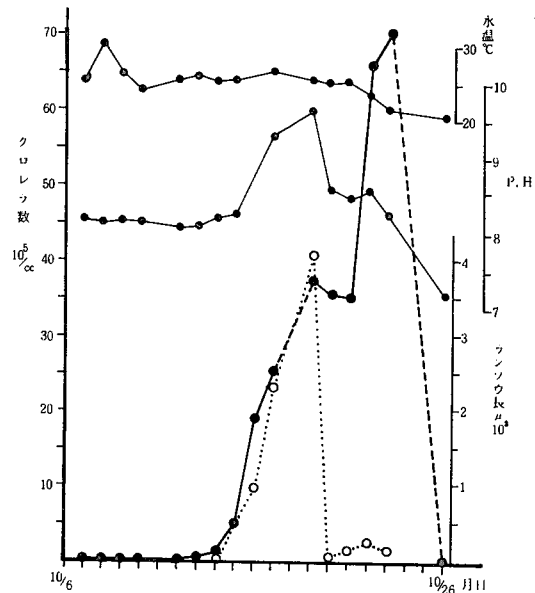


図1 海産クロレラの分離例1.

著しく減少した。図1には藍藻の増減も示したが藍藻は1区画に現われる糸状藻の数及びそれらのおおよその長さを求め、それらを全部加えた長さで表示した。

例2. 方法は例1とほぼ同様であるが、期間は56年9月2日～10月5日の間である。結果を図2に示したが、開始当時すでにクロレラは1区画に1個、1cc中に1万個程度が確認された。この開始時のクロレラ数1万個は、3日後に地先海水を検鏡した時点でも同様であった。クロレラは18日後には1cc中に1772万個にまで増殖したが、この時点で他のクロレラ培養の元種として使用し約200ℓを残しそれを元に再び肥料、海水を追加して500ℓとし培養を続けたところ10月3日には1790万個に達したが、10月5日には17万個に激減した。この間糸状の藍藻は極くわずかに認められる程度であった。

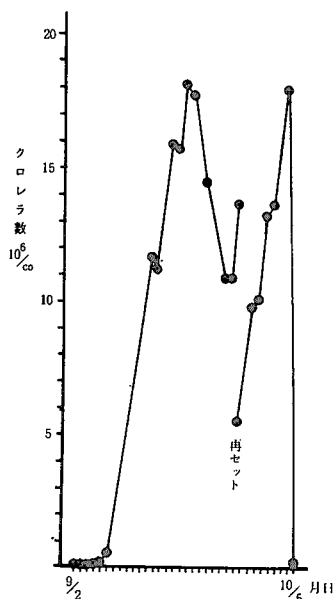


図2 分離培養例2.

例3. 前出の方法とほぼ同様であるが、今回は500ℓを3個用い、一方には前出の肥料を投入し (No.1)、他には尿素のみを30g (No.2)、硫酸のみを55g投入した (No.3)。期間は57年1月5日～3月2日。クロレラは開始当初は10区画を検鏡しても認められなかったがその後は2区画以下を計数した。No.2、No.3にはクロレラの発生が認められないので、1月30日にはそれぞれに6.5gの過石を新しく投入した。

結果を図3に示した。No.1はクロレラが順調に発生したが、No.3は過石投入以降に発生し、No.2は発生が認められなかった。期間中水槽壁へのアオノリ類の付着発生が著しく、実験終了時にはNo.2はほぼその全面をおおう状態であり、No.3は約70%程度No.1は20%程度をおおわれていた。またNo.1には糸状藍藻の発生がわずかに認められた。

例4. 100ℓ槽を用い前出の肥料濃度、すなわち水量1トンあたり、硫酸100g尿素8g、過石13g、クワット10gを100%とし (No.1) 以下50% (No.2) 25% (No.3) 10% (No.4) の4つの肥料濃度区をも

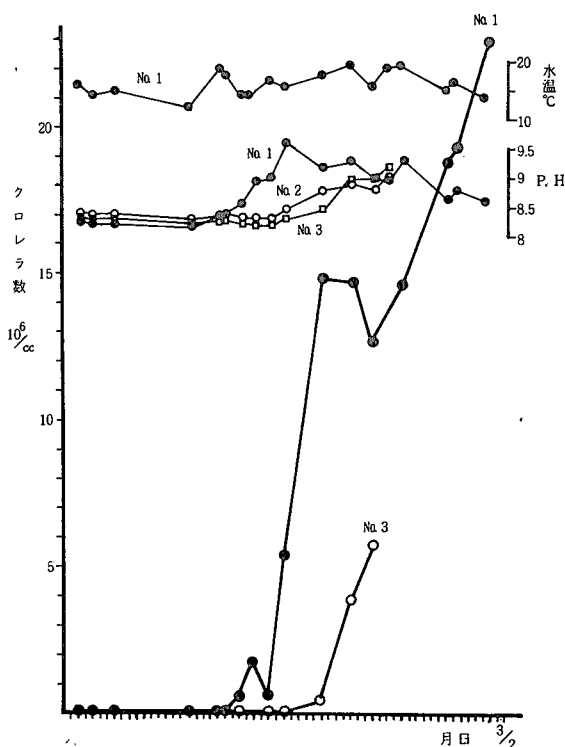


図3 クロレラの分離例3

うけてスタートしたが一部は途中から肥料を追加した。期間は57年10月25日～11月17日 通気等その他の条件はこれまでと同様である。期間中水温は16.7℃～26.7℃、PHは7.74～9.09の間を変動した。

開始当初、クロレラは30区画の検鏡では認められなかった。3日目から

は、珪藻類、クラミドモナス類、緑藻類の遊走子と思われるもの、等々種々の生物の発生が認められ、5日目以降それらによって、薄黄～薄緑を呈する状態となった。クロレラらしきものは6日目以降に認められたが、他種との区別は困難であった。9日目には1区画中0.5～3個が認められたが、その他の藻類の発生が著しく、特にアオノリ類と思われるのは1区画に10～26個（1ccにすると10万個～26万個）観察された。以後水槽壁にはアオノリ類や藍藻類が発生し、13日目にはアオノリが長いものでは1cmに達した。No.3、No.4の両水槽は白色化し、クロレラが減少したので10%量の肥料を追加した。両水槽は15日目にさらに10%の肥料を追加した。

17日目には全水槽をクリーンフィルターで濾過し、水槽壁の付着藻類を洗い落とし、再セットを行った。藻類の付着は被度80%～30%で肥料濃度の濃い区ほど高かった。この間降雨のためかなりオーバーフローし、比重はNo.1から11.5、13.5、10.5、11.0（現場比重）に低下した。濾過後は20%の肥料をそれぞれに追加し、以後3日続けて10%濃度の肥料を追加した。クロレラの増殖を図4に示したが、その他の藻類や原生動物等の出現も著しくクロレラよりもそれらの多い水槽もあったが、動くものなど観察が困難なため計数は行なわなかった。

例5. 500ℓ槽を用い、1つには硫安50g、尿素4g、過石6.5g、クレワット5gを投入し（No.1）、他には珪藻用に用いられる培地のケイ酸ナトリウム1.5g、クレワット9g、硝酸カリウム30g、リン酸ナトリウム7.5gを投入（No.2）また、藍藻用に用いられる培地の硝酸カリウム20g、硫酸マグネシウム10g、塩化カルシウム0.7g、リン酸カリウム3.5g、クレワット5gを投入（No.3）の3区を設けた。通気その他は前出と同様である。実験は56年10月31日～25日にかけて行なった。

今回の実験ではクロレラはNo.1水槽では10日目には3区画に1個程度出現し、終了時には1cc中に1,100万個に増殖したのに対し、No.2、No.3には終了時まで発生が認められず、黄色鞭毛藻類、珪藻類、渦鞭毛藻類、その他緑藻類や繊毛虫類等の各種が出現し、水槽壁にはアオノリ類や、藍藻

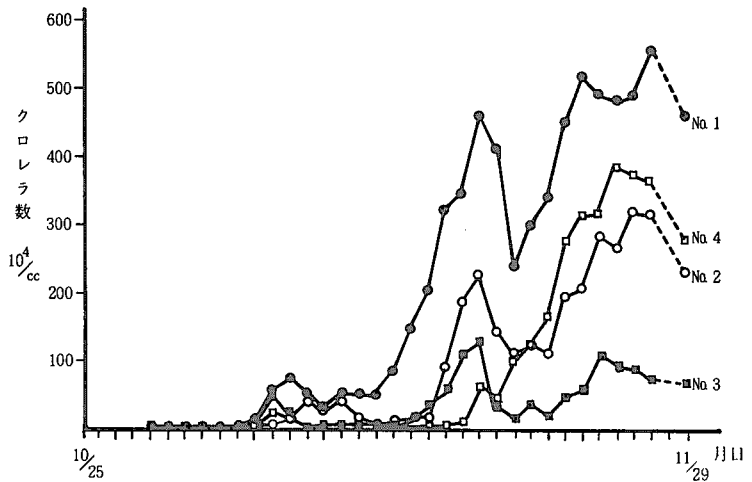


図4 海産クロレラの分離培養例4.

類が付着発生していた。No.1 水槽も終了時にはニッチアが1万個、糸状藍藻が2万群体発生していた。

(2) クロレラの通気、無通気培養の比較

500ℓ槽を使用、水量500ℓ、一方は内径9mmのビニールチューブで連続通気、他は計数前に2分間程攪拌のため通気を行なう以外は無通気とした。肥料は硫安50g、尿素4g、過石6.5g、クレワット5gをそれぞれ投入した。期間は57年1月18日～2月17日、途中、同量の肥料を通気区には2月4日に、無通気区には2月10日に追加した。

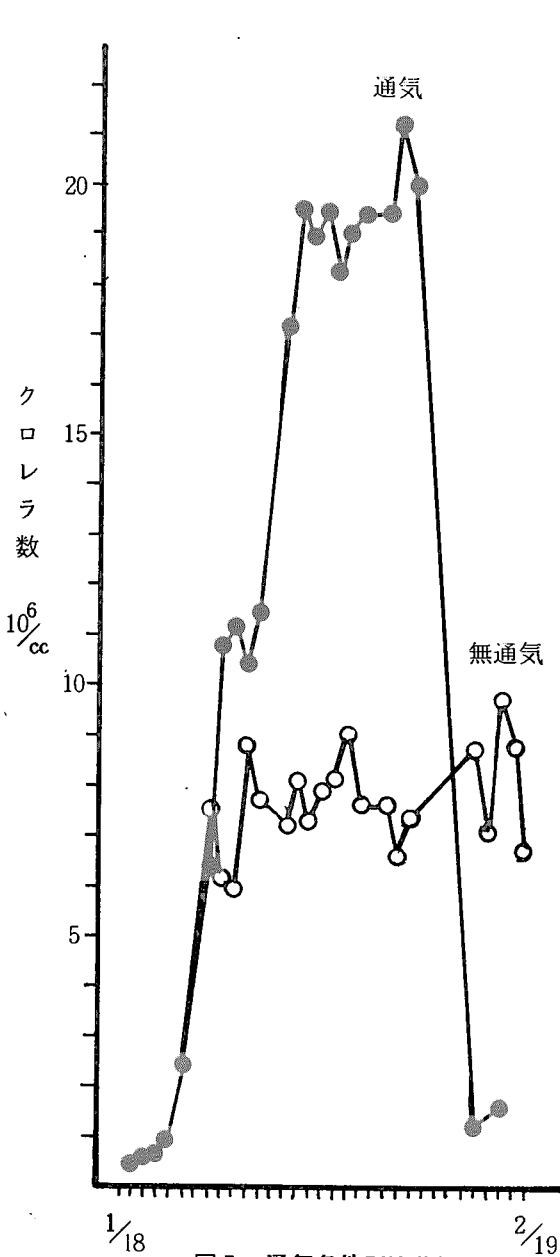


図5 通気条件別培養例

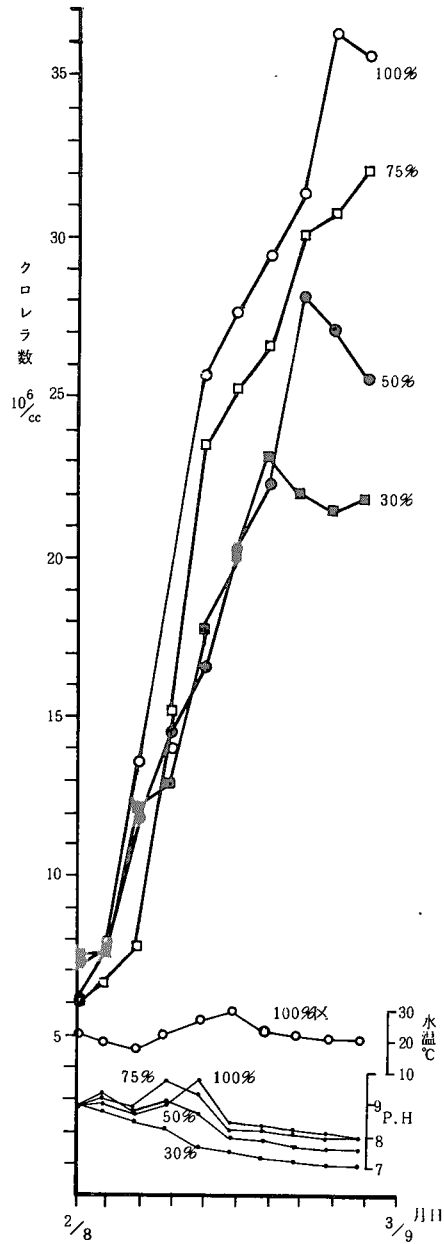


図6 海水濃度別培養例

クロレラの増殖を図5に示したが、止水区では700万個～900万個で増殖が停止しているのに対し、通気区では2,000万個以上に達した。しかし両区とも糸状藍藻が発生し、特に通気区ではその増殖は著しく13日目からはアワ状に浮き、水表面の大部分を被う状況となった。その後通気区ではクロレラは急激に減少したが、無通気区はほぼ平行状態を保った。同区の糸状藍藻は終了時でも1cc中に1群体、長さ100 $\mu$ 程度であった。

### (3) クロレラの海水濃度別培養

100 $\ell$ 槽を用い、元種として生海水の濃度で培養中のクロレラを使用し、生海水を100%とし、以下75%、50%、30%の各海水濃度区を設けた。通気は9mmのビニールチューブ1本ずつで行ない肥料は、硫酸10g、尿素1g、過石1.5g、クレワット1gを投入した。培養期間は57年2月28日～3月9日。クロレラの増殖は海水濃度が高いほど早かったがその結果を図6に示した。計数計測は午後2時から3時の間に行なった。

### (4) クロレラの高密度培養

例1 500 $\ell$ 槽を使用。海水で培養中のクロレラ及び海水をクリーンフィルターで濾過、450 $\ell$ としさらに淡水を50 $\ell$ 加え全量500 $\ell$ とした。径4mmのビニールチューブ1本で通気を行ない、肥料は尿素120g、リン酸カリ8g、リン酸アンモニア6g、硫酸第一鉄0.5gを投入した。培養は56年11月16日～12月15日の間に行なった。

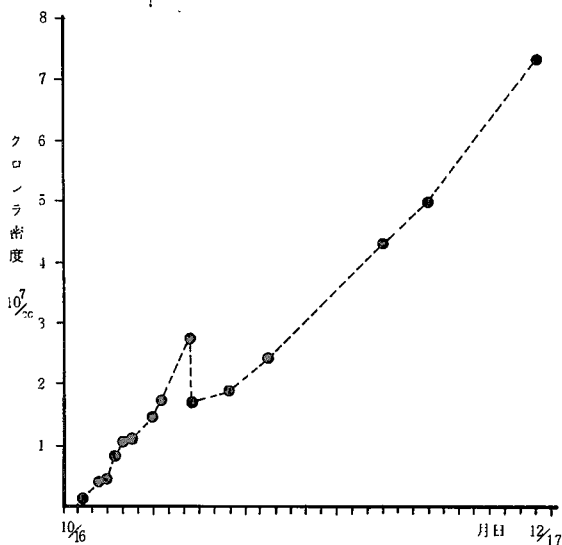


図7 500 $\ell$ 槽クロレラ高密度培養例

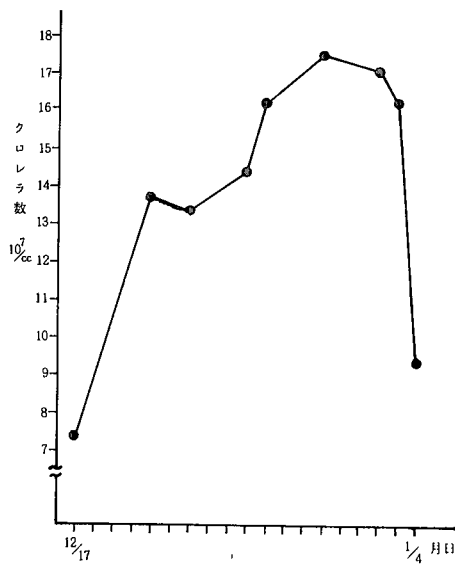


図8 広口瓶クロレラ高密度培養例

結果を図7に示したが、15日目に2,780万細胞に達した時点で一部を他に使用し、再び濾過海水を加えて500ℓとし、再セット。終了時の12月15日には7,340万細胞に達したが、水量は一部を使用したため400ℓであった。

例2 内径15cm、高さ24cmの広口ビンを用い、例1のクロレラ3ℓを30μのネットで濾し、尿素1gを投入してセット。通気は径4mmのガラス管から毎分2.5ℓの割で行なった。培養中、蒸発で減少した分量だけ蒸留水を追加した。結果を図8に示したが、最高密度17,500万細胞に達し、後に減少して9,360万細胞となった時点で冷蔵保存に供した。

#### (5) 海産クロレラの冷凍、冷蔵保存再生実験

例1 500ℓ槽を用い濾過海水500ℓに硫酸50g、尿素4g、過石6.5g、クレワット5gを投入内径4mmのビニールチューブ1本で毎分10ℓの通気を行なった。元種は屋外大型コンクリート槽のクロレラをクリーンフィルターで濾過中に、フィルターにかかったのを絞り取り、500mlの標本ビンで冷蔵庫に保存していたものである。採取は56年7月9日。保存には特に添加物を用いることはせず、クロレラ海水のみ。冷蔵37日後の8月14日に同試験を実施し、9月7日に終了した。

クロレラを接種する際には特に温度の調節などは行なわず、冷蔵庫から取り出して直ちに培養水中に投入した。開始当初は372万個であったのが5日目には1,448万個となった。この時点で70ℓを元種に再セット、他は大型池の元種に用いた。再セット後8月27日には更に一部をまびきし、その後最高密度2,292万個に達したが9月7日に1cc当り1尾のワムシの混入が確認されたので実験を終了した。結果を図9に示した。

例2 100ℓ槽、4mmチューブ1本でエアレーション。57年3月2日、冷凍保存中のクロレラを100ℓの海水に溶かしクリーンフィルターで濾過し、硫酸10g、尿素1g、過石1.5g、クレワット1gを投入した。セット直後のクロレラは200万個、水色は緑を呈していたが細胞の輪郭は不明

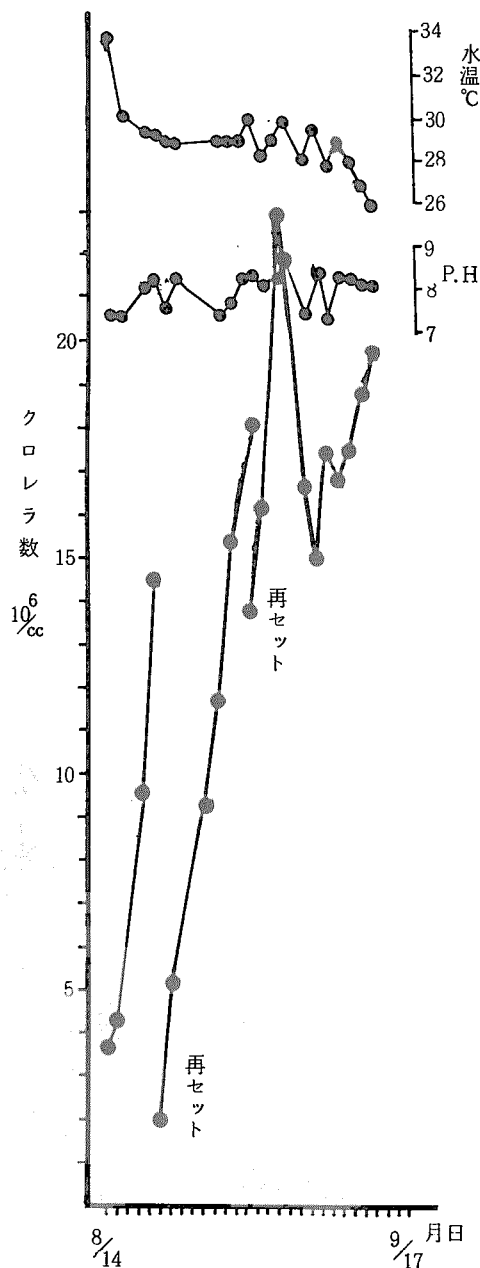


図9 冷蔵クロレラ再生実験

瞭なのがほとんどであった。翌日には白化したため、再び冷凍クロレラを同量追加した。元種のクロレラは56年2月6日に屋外池の底泥に混じって沈殿しているものをそのままユニパックで冷凍保存したもので、追加の際には濾過をせず泥ごと溶かし込んだ。翌日には再びやや白化したものの、その後3月10日には520万個、18日には2,610万個に達した。

(6) ワムシ耐久卵の採取、保存再生実験

① シオミズツボワムシの型について。シオミズツボワムシは複数の型に分けられ、種の異同が論議されるが、少なくとも二型は広く認められ、当所においてもこの二型が認められる。二型は主に背甲刺の形状で識別されるが小型で背甲刺が鋭いのを小型ワムシ（S型）と称し、それに比べて背甲刺の尖り方がやや鈍いものは普通ワムシ（L型）と称し大型である。小型ワムシは普通ワムシに比べると高温期に増殖が著しい。

当所での両型の甲長組成例を図10に示した。図の例では小型が115 $\mu$ ~225 $\mu$ で、普通ワムシが160 $\mu$ ~305 $\mu$ であった。抱卵個体の甲長組成を図11に示したが、小型ワムシで140 $\mu$ ~220 $\mu$ 、普通ワムシは195 $\mu$ ~330 $\mu$ と再者はかなり大きさに相違がある。

② 耐久卵の再生実験。屋外大型槽で連続培養中のワムシに耐久卵が出現したので昭和57年5月15日、その底泥より60 $\mu$ のネットで耐久卵をふるい分け、冷凍、冷蔵、風乾の三方法で保存した。冷凍、冷蔵共にユニパックに入れて保存し、風乾卵は新聞紙上に薄く広げ、室内に約1ヶ月静置した後、ユニパックに入れ室温で保存した。耐久卵は57年5月15日の時点ではワムシはまだ普通ワムシのみの状態であった。

この卵を57年9月17日に、海水で培養中のクロレラをそのままの濃度で100 $l$ 槽に入れ、それぞれ適量を投入した。4mmのチューブ1本で通気を行ない攪拌につとめたが、風乾卵は暫らくはぐれず、塊をなして沈殿するものが多かったので3日目に再度はぐし直した。セット終了時の水温は

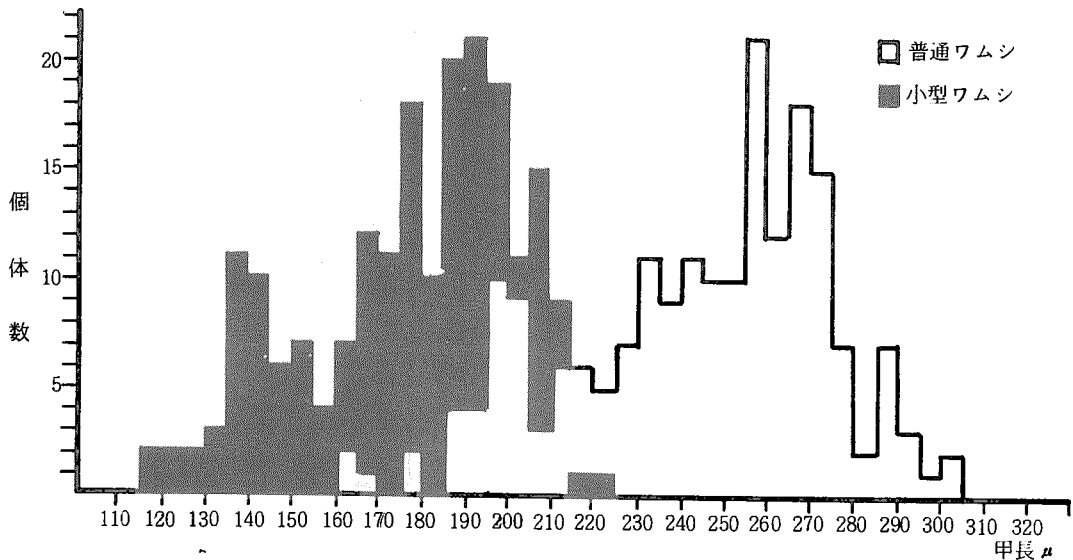


図10 型別ワムシ甲長組成例 (昭和57年2月18日採取)

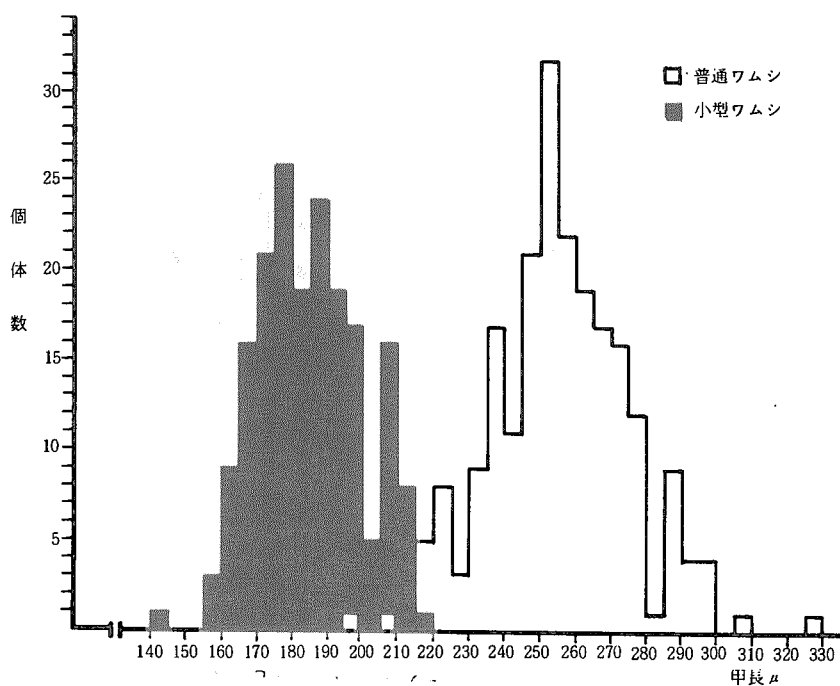


図 11 型別抱卵個体甲長組成例 (昭和55年~57年)

28.0°C、PH 9.93、クロレラ数は1,700万個であった。クロレラは翌日にはフロック化し以後の計数は行なわなかった。ワムシは41時間後には冷凍冷蔵共に孵化し、風乾卵はその翌日から孵化した。孵化48時間後には産卵個体が出現した。図12にワムシ数の増加を示したが、セット時の耐久卵は冷凍卵が1cc中に12個、冷蔵卵が19個、風乾卵が、三日後のほぐし直した時点で17個であった。終了時の25日には冷蔵卵区が1cc中に4個、風乾卵区で9個の耐久卵が残っていた。

耐久卵と雌卵は卵膜と卵の間の空所の大きいのを耐久卵として扱い、膜と卵が密着しているのは雌卵とした。今回使用した耐久卵はその最外層の卵膜径では長径114μ~154μ、短径82μ~112μであった。図13に今回使用した卵の径分布を示した。

### 3. 論 議

地先海水からのクロレラの分離は海産クロレラの培養に広く使われている硫酸、尿素、過石、ク

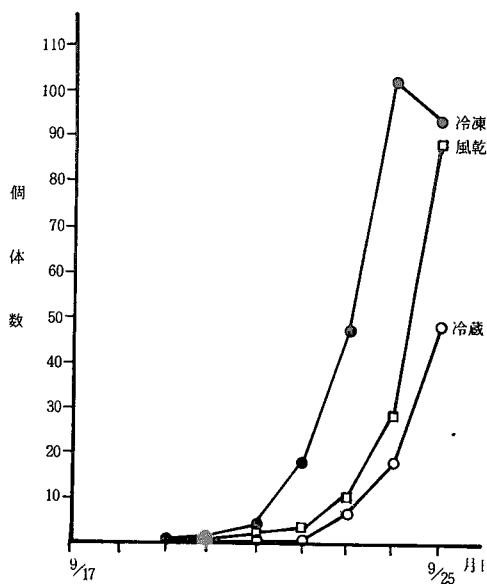


図 12 耐久卵孵化実験



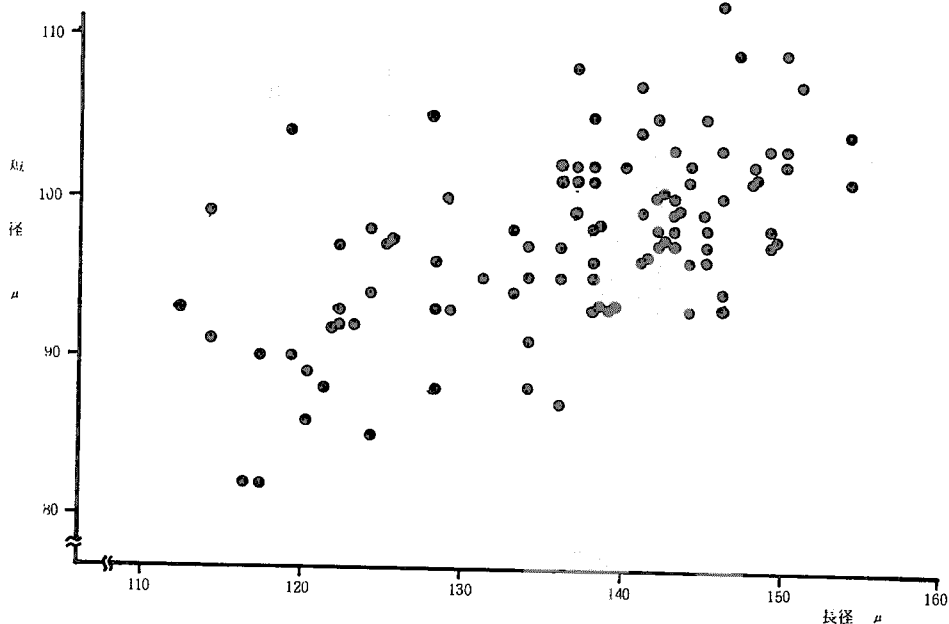


図 13 普通ワムシ耐久卵、卵膜径 (昭和57年 5月15日採取)

レワットの組合せで十分に行なわれ、肥料濃度もそれぞれ水量 1 トン当り 100g、8g、13g、10g の一般の培養に用いられる濃度が適している。もっとも今回実施したのは予備的段階に留まっており、より適した分離法も予想されるが、現行の方法でも実用には差しかえない。

この方法でのクロレラの分離は、成功率は約50%と言われるが、その主な要因はクロレラそのものにあるのではなく、今回の実験にも示されるように他の競合種の発生にあるものと思われる。特に当地では競合種として、アオノリ類とオシラトリアと思われる糸状の藍藻の発生が著しかった。しかしこれらがいずれもクロレラより大型であるためクリーンフィルター (濾過能力 5 μ) で濾すことによってかなりの高率で除去できる。小型水槽の規模でならこの方法で約80%の成功例を得ている。

実際には元種として分離する際に複数の水槽を用いればよい。これまで実施した例では周年に渡って分離は可能であった。しかし培養期間は 1,500 ~ 2,000 万個に達するのにはほとんどの場合一ヶ月以上を要しており、新たに分離して元種とする場合には十分な期間を考慮する必要がある。また一般の培養でもそうであるが、培養が長くなるとクロレラが不調となり急減する事が多い。特に新たに分離した場合にはその例が多く、早めに植えつき培養を更新しておく方が安全である。

今回の塩分濃度別の実験では海水濃度に近い程、増殖は著しかったが、いずれの濃度でも増殖しており、かなりの広塩性が認められた。元来海産クロレラは 5% ~ 40% の間であれば生育可能と言われ、適濃度は 20% ~ 30% と若干海水濃度よりも低めとされる。実際の大量培養では 10% ~ 20% の淡水を加える例が多い。当地では生海水そのまま特に比重調節などは行なっていないが、時には雨でもかなり比重が低下すること、クロレラ培養水をそのまま仔魚飼育池に導入するのでそ

の際の水質変化を出来るだけ少なくする、あるいは作業を簡略化する等を考慮したものである。

クロレラの培養密度は一般に水深80cm～1mの大型池では、2,000万個程度であるが、そのほとんどの場合がエアレイション方式である。エアレイションは培養水の攪拌と同時に炭酸ガスの溶け込みを促しており、それがクロレラの炭素源となっている。今回の実験でも無通気区は途中でクロレラの増殖は停止したが、現在の培養法でのエアレイションの効果を示すものであろう。海産クロレラの通気量は小容器の例では水量1ℓ当り毎分約0.2ℓ以上で最も増殖の著しいことが知られている。

一方通気の他に光条件も大きな要素の1つであり、高密度クロレラ培養の例で示されるように容器が小型化し、通気が十分であると、その培養密度は17,000万個にも達する。大型池で養分のみを増加してもそのような高濃度は出現せず、現在の培養条件では、光、炭酸ガスの供給、養分の各要因が満たされる必要がある。現在高密度培養の実用化を行なっている所ではポンプアップによる回流水槽を用い水深も20cm以下とし、一部CO<sub>2</sub>ガスを供給、6,000万～10,000万個の濃度を得ている。

クロレラの冷蔵・冷凍保存については今回は少量の実験であったが、元種としては一年を経ても実用が可能であることが示された。すでに一部では濃縮冷蔵クロレラは元種としてでなく生クロレラの替りに実用に供されており、当所でも同様な事は十分に行ない得るものと予想される。

ワムシ耐久卵の採取については自然に形成されたものをネットで選分けたが、加温によって産卵誘発が行なわれており、また濃塩水での大量選別も行なわれている。今回出現した耐久卵は最高時には70トン池において水中に浮遊している卵のみでも1cc20個以上に達し、それだけでも14億個に達する。実際には泥と一緒に底に沈んでいる卵がはるかに多いものと予想され、その実数はかなりの数に達するものと考えられる。

## 5. 成果の要約

。 地先海水からの海産クロレラの分離培養は比較的容易に行ない得る、肥料も現在広く用いられている。水量1トンに対して硫酸100g、尿素8g、過石13g、クレワット5gで差しつかえない。しかし、より効率を高めるためには、競合種を除去する必要があり、フィルター等で濾過することで高い効果が得られる。

。 海産クロレラは塩分濃度5%～40%で生育可能と言われており、当所で分離培養されたクロレラも同様にかかなりの広塩性種であることが示された。

。 現在行なわれている明状件下の培養では養分、光、炭酸ガスの供給のそれぞれの条件を満たすことが重要で、通気を十分に施した小容器では1cc中に17,500万細胞にまで達した。高密度培養の際には、人為的にコントロールし難い、光条件に規制される面が強く、培養時には水深を考慮する必要性が強い。

。 冷凍・冷蔵保存クロレラは、特別に添加剤を加えずとも、元種として一年間は実用可能であった。今後さらに長期の保存が期待される。

◦ ワムシ耐久卵は、冷蔵、冷凍、風乾の各方法でも保存、再生が可能であった。大型池を計画的に利用することによっては大量採取も行ない得るものと考えられる。

## 6. 今後の課題

クロレラの分離培養の効率化及び高密度培養方法の検討

- 保存用クロレラの採取方法・並びに長期保存の検討
- ワムシ耐久卵の大量採取、人為誘発、及び長期保存
- 他餌料生物の探索と培養技術の研究

## 7. 文 献

代田昭彦（1975）：水産餌料生物学。恒星社厚生閣

山路 勇（1980）：日本海洋プランクトン図鑑。保育社

水野 彦（1966）：日本淡水プランクトン図鑑。保育社

猪木正三監修（1981）：原生動物図鑑。講談社

西澤一俊・千原光雄編（1979）：藻類研究法。共立出版株式会社

田宮 博・渡辺 篤編（1975）：藻類実験法。南江堂

武智芳郎（1978）：クロレラその基礎と応用。学習研究社

根井外喜男編（1979）：微生物の保存法。東京大学出版会

九州・山口ブロック水産試験場マダイ種苗生産研究会（1977）：マダイ種苗生産技術の現状と問題点。日本水産資源保護協会

平田八郎（1980）：海産クロレラの作り方。養殖（1）

平田八郎・村越正慶（1977）：海産クロレラ培養水への通気効果に関する2・3の吟味試験。鹿兒島大学水産学部紀要26

日本栽培漁業協会（1982）：昭和56年度日本栽培漁業協会事業年報

伊藤 隆（1960）：輪虫の海水培養と保存について。三重大学水産学部報告3（3）

小倉敏義・小川敏行・北島 功（1982）：L型・S型ワムシの季節的消長およびワムシ密度の増減にともなう大きさの変化。長崎県水産試験場研究報告（8）

日野明徳・平野礼次郎（1976）：シオミズツボワムシの両性生殖誘巢機構に関する研究—1（英文）日本水産学会誌42（10）

今村茂生・芦立昌一・東條英雄（1979）：温度刺激によるシオミズツボワムシの耐久卵採取方法について。栽培技研8（2）

小倉敏義・小川敏行・北島 功（1982）：ワムシ耐久卵の大量採取方法。長崎県水産試験場研究報告（8）

餌料用動物プランクトンの大量培養研究連絡協議会（1979）：餌料用動物プランクトンの大量培養。日本水産資源保護協会

沖縄県水産試験場（1982）：昭和56年度栽培漁業技術開発事業報告書